

HOTAIRによる肝細胞癌悪性化機構の制御

著者	藤坂 泰之
号	87
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3687号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00124079

(書式12)

氏名	ふじさか やすゆき 藤坂 泰之
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成29年9月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	HOTAIRによる肝細胞癌悪性化機構の制御
論文審査委員	主査 教授 下瀬川 徹 教授 木内 喜孝 客員教授 佐藤 賢一 教授 今谷 晃

論文内容要旨

【背景】 HOTAIR (HOX transcript Antisense Intergenic RNA) は HOX 遺伝子座で同定された転写抑制に関与する lincRNA (large intervening non-coding RNA)であり、その発現が肝臓癌を含む様々な癌の転移や予後不良と関連していることが報告されている。しかし、肝細胞癌における HOTAIR による癌進展促進の詳細な分子機序は未だ十分に解明されていない。近年、腫瘍随伴マクロファージ (Tumor-associated macrophage, TAM) や骨髄由来抑制性細胞 (Myeloid-derived suppressor cell, MDSC)といった癌細胞周囲の免疫担当細胞が生体免疫を抑制することで癌の進展に寄与していることが示唆されている。HOTAIR の腫瘍免疫への関与についての報告は現在までみられない。

【目的】 肝細胞癌における HOTAIR の癌悪性化の分子機序を明らかにすることを目的とした。

【方法】 内因性 HOTAIR の発現の低い肝細胞癌細胞株に HOTAIR の cDNA を、発現の高い細胞株には HOTAIR の siRNA を、レトロウイルスを用いて遺伝子導入し、それぞれ強制発現細胞・発現抑制細胞を作製し機能を解析した。肝癌細胞で発現の変動している分子はマイクロアレイを用い網羅的解析を行い同定した。HOTAIR と腫瘍免疫の関連については、健康人の末梢血単核球 (PBMC) と HOTAIR の発現を増強あるいは減少させた肝癌細胞を共培養しフローサイトメーターを用いて解析した。また、ヒト肝細胞癌手術検体と Gene Expression Omnibus から得られ

(書式 1 2)

たデータベース (GSE2109) を用いて HOTAIR と chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) の発現と臨床因子との関連を検討した。

【結果】 HOTAIR 強制発現および発現抑制肝癌細胞の細胞増殖能、細胞移動能はそれぞれのコントロール細胞と比べ有意な差を示さなかった。網羅的遺伝子解析の結果、コントロール細胞と比べ HOTAIR 発現肝細胞癌において CCL2 が最も発現の亢進した遺伝子として同定された。HOTAIR を強制発現させた肝癌細胞は共培養した PBMC 中のマクロファージ分画と MDSC 分画中の細胞数を有意に増加させた。また、この変化は CCL2 の発現のない肝癌細胞では認められなかった。HOTAIR と CCL2 が共に高発現している例は stage の高い肝癌症例に高頻度存在していた。

【結論】 本研究の結果、HOTAIR による肝癌悪性化の分子機序のひとつとして、CCL2 の発現亢進を介した TAM・MDSC の誘導が示唆された。

審査結果の要旨

博士論文題目 HOTAIR による肝細胞癌悪性化機構の制御

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 消化器病態学分野

学籍番号 B3MD5101 氏名 藤坂 泰之

本研究は、HOX 遺伝子座で同定された転写抑制に関与する lincRNA (large intervening non-coding RNA) である HOTAIR (HOX Transcript Antisense Intergenic RNA) が肝細胞癌において CCL2 発現亢進を介して腫瘍随伴マクロファージ (Tumor-associated macrophage, TAM) や骨髄由来抑制性細胞 (Myeloid-derived suppressor cell, MDSC) を増加させ、これらが肝細胞癌に対する T cell による免疫攻撃を抑制して腫瘍進展を促進させる可能性を明らかにした興味ある論文である。肝癌細胞の HOTAIR を介した免疫監視回避による自己防御という新しい現象を示した。方法論として、HOTAIR cDNA の導入による発現亢進細胞ならびに HOTAIR siRNA 導入による発現抑制細胞を用いた in vitro の実験により、HOTAIR が直接的には腫瘍細胞の増殖能、細胞移動能には関与しないこと、HOTAIR 過剰発現細胞の網羅的遺伝子解析により CCL2 の発現が亢進していること、また、HOTAIR の強制発現細胞との共培養により健常人の末梢血単核球 (PBMC) 中のマクロファージ分画と MDSC 分画中の細胞が増加し、これが CCL2 を介している可能性を実験的に示した。また、Stage III、IV の進行肝癌症例では、Stage I、II 症例に比べて癌細胞の HOTAIR と CCL2 が共に高発現する傾向が見られ、HOTAIR が肝癌進展に関与している可能性を臨床症例でも示している。このように、本研究は HOTAIR に注目し、肝癌進展における HOTAIR の役割をさまざまな角度から検討し理論的に証明している。第一次審査ではいくつかの指摘を受けたが、それぞれに対して適切に論文が修正されており、学位に値する研究論文と判断する。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。